

Aus dem Pathologischen Institut
der Justus Liebig-Universität Gießen
Lehrstuhl I
(Direktor Professor Dr. J. Kracht)

**Histologische und histometrische
Untersuchungen des Femur- und
Wirbelmarks von Ratten bei
verschieden langer Benzolintoxikation**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Helmuth Martens
aus Nedlitz

Gießen 1971



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545904_0033

Aus dem Pathologischen Institut
der Justus Liebig-Universität Gießen

Lehrstuhl I

(Direktor Professor Dr. J. Kracht)

**Histologische und histometrische
Untersuchungen des Femur- und
Wirbelmarks von Ratten bei
verschieden langer Benzolintoxikation**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität Gießen**

vorgelegt von
Helmuth Martens
aus Nedlitz

Gießen 1971

Aus dem pathologischen Institut
der k. k. Universität Wien
Lehrstuhl I
(Direktor: Dr. J. Kersch)

Histologische und histochemische
Untersuchungen des Fetus- und
Widelmens von Ratten bei
verschieden langer Benzolintoxikation



Leitung: Dr. J. Kersch
zur Erlangung des Doktorgrades
der medizinischen Fakultät
der k. k. Universität Wien

vorgelegt von
Heinrich Meisinger
aus Wien

Wien 1911

Dekan: Professor Dr. H.G. Lasch

Referent: Priv. Doz. Dr. K. Noeske

Conferent: Prof. Dr. Dr. Forger

Inhalt

	Seite
Einleitung	1
Material und Methoden	3
1. Versuchsansatz	3
2. Versuchstiere und tierexp. Arbeiten	3
3. Hämatologische Untersuchungen	4
4. Histologische Präparation	4
5. Histometrische Techniken	5
6. Statistische Methoden	6
Fehlerdiskussion	7
Ergebnisse	9
1. Hämatologische Befunde	9
2. Histologische Befunde	10
3. Histometrische Befunde	17
a) Untersuchungen mit der Treffermethode	17
b) Zellbestimmung pro Flächeneinheit	20
4. Tabellen	23
5. Graphische Darstellungen	28
Statistische Auswertung	13
Diskussion	34
Zusammenfassung	41
Literatur	43

Einleitung

Das Versagen der blutzellbildenden Knochenmarksfunktion stellt den klinisch tätigen Mediziner immer wieder vor die häufig nicht zu beantwortende Frage nach Ätiologie und Pathogenese einer solchen Funktionsstörung. In einem Modellversuch an Ratten mit der myelotoxischen Substanz Benzol sollte mit Hilfe moderner histologischer Präparations- und Untersuchungstechniken der morphologische Ablauf eines reproduzierbaren pathogenetischen Geschehens aufgeklärt werden unter der Vorstellung, daß sich dabei ein bestimmter Schädigungstyp am blutzellbildenden Knochenmark herausarbeiten ließe.

Nach zahlreichen klinischen Beobachtungen treten bei chronischer, seltener auch bei kurzzeitiger Benzolexposition abhängig von der individuellen Disposition Benzolhämopathien auf. Dabei handelt es sich häufig um Leukopenien (SAITA und VIGLIANI 1962, TARCEFF et al. 1963) oder aplastische Anämien (MC LEAN 1960, LUDWIG u. WERTHEMANN 1962, DE GOWIN 1963), aber auch andere Formen der Zellbildungsstörung (MC LEAN, DE GOWIN, GALLINELLI et al. 1963, POLLINI et al. 1964) bis hin zur Panmyelopathie kommen vor (MIESCHER et al. 1961, LUDWIG et al. 1962).

12-15 % dieser Hämopathien sollen in Benzolleukosen übergehen (VIGLIANI 1964), wobei neben anderen chronischen Formen gehäuft das Bild der chronisch-myeloischen Leukose beschrieben wird (KÄHLER et al. 1961, TARCEFF et al. 1963, LUDWIG und WERTHEMANN 1962), oder aber es treten - oft nach präleukämischen Perioden von bis zu 16 Jahren nach Beendigung der Benzolexposition (GALLINELLI et al. 1963, DE GOWIN 1963) - akute Leukosen auf, die dann nach wenigen Monaten zum Tode führen (POLLINI, TARCEFF, GALLINELLI, DE GOWIN, VIGLIANI).

Diese Zusammenhänge sind experimentell erstmals von WEISKOTTEN 1916 und SELLING 1916 mit hämatologischen Methoden untersucht worden. LIGNAC beschrieb 1933 sog. Benzolleukämien an weißen Mäusen. 1966 untersuchten SPECK et al. in einer autoradiographischen Studie den Wirkungsmechanismus des Benzols bezüglich des Effekts auf DNS-Synthese und daraus ablesbare Proliferations- und Reifungsstörungen im Knochenmark. 1966 verglich MATSUSHITA die Benzolwirkung mit der der verwandten Substanzen Toluol und Xylol. ITO stellte 1966 elektronenmikroskopische Untersuchungen über das RES des Knochenmarks an und untersuchte auch lichtmikroskopisch die Benzolwirkung auf die Knochenmarksstrukturen. Im Wesentlichen beschränkten sich die bisherigen Untersuchungen jedoch auf die Ausstrichhämatologie. Mit der Entwicklung moderner gewebeschonender Einbettungs- und Schneiderverfahren (BOELLAARD und HIRSCH 1959, BURKHARDT 1966) wurde eine genauere Bearbeitung der histologischen Knochenmarksstrukturen möglich. Denn die früher üblichen Entkalkungstechniken erlaubten keine sichere Differenzierung der verschiedenen Zellelemente, keine zuverlässige Beurteilung der mesenchymalen Strukturen und wegen der Gewebsschrumpfung keine exakte histometrische Auswertung des Knochenmarks. (Weitere Details im Abschnitt "Material und Methoden" sowie bei BURKHARDT).

Die Schädigungen des blutzellbildenden Knochenmarks als Teilaspekt der Schädigungen des Menschen durch die industrialisierte Umwelt und auch durch Pharmaka werden somit für detaillierte Studien durch moderne Bearbeitungs- und Auswertungsmethoden erreichbar.

Material und Methoden

1. Versuchsansatz

An Ratten sollte die Wirkung einer verschieden langen parenteralen Benzolapplikation auf die histologische Zusammensetzung des Knochenmarks geprüft werden. Die parenterale Benzolapplikation wurde in Anlehnung an die Erfahrungsberichte der einschlägigen Literatur gewählt, weil bei diesem Verfahren mit geringstem Aufwand eine zuverlässige Dosierung der toxischen Substanz erzielt werden konnte. Die einzelnen Tiergruppen sollten nach den jeweiligen Behandlungszeiten zur Untersuchung mehrerer verschiedener Knochenmarksbezirke getötet werden.

2. Versuchstiere und tierexperimentelle Arbeiten

27 männliche Albinoratten eines hauseigenen Inzuchtstammes zwischen 377 g und 227 g schwer erhielten mit Ausnahme von 3 Kontrolltieren täglich Benzol in einer Dosis von 1,3 g / kg Körpergewicht subcutan in die Bauchhaut injiziert, pro Tier und Tag durchschnittlich 350 - 500 mg. Die während des Versuches eintretende Gewichtsabnahme der Tiere wurde bei der Dosierung berücksichtigt. Wägungen und Injektionen wurden während eines kurzen Ätherrausches der Tiere vorgenommen. 5 Tiere dieser ersten Reihe starben vorzeitig. Durch die täglichen Injektionen in die Bauchhaut kam es bei einigen Tieren zu Entzündungen, teilweise bissen sich die Tiere selbst die Bauchhaut auf. Da durch austretendes Wundsekret eine einheitliche Dosierung nicht mehr gewährleistet war, mußten diese Tiere aus der Bewertung herausgenommen werden. Nach jeweils 3,7,10,14,17,22 Tagen Benzolbehandlung wurden die entsprechenden Tiergruppen ebenso wie

die Kontrolltiere im Ätherrausch dekapitiert. Nach dem Ausbluten wurden neben anderen Organen für histologische Untersuchungen ein 1 cm langes subtrochanteres Stück des linken Femurschaftes und die ersten zwei LWK entnommen und umgehend zum Fixieren in Schaffers Gemisch (BURKHARDT 1966) eingelegt.

3. Hämatologische Untersuchungen

Vor Beginn des Versuchs und vor der Tötung der einzelnen Tiergruppen wurde von jedem Tier ein hämatologischer Status erhoben: Erythrozytenzählung bzw. Leukozytenzählung wurden in der Türk'schen Zählkammer nach vorheriger Verdünnung mit Hayemscher bzw. Türkscher Lösung durchgeführt, die Hb-Bestimmung mit Hilfe der Sahli-Technik (GIM-Röhrchen). Das Blut wurde jeweils der Schwanzvene entnommen. Von den Pappenheimgefärbten Blutaussstrichen wurden je Ausstrich 100 kernhaltige Zellen differenziert.

4. Histologische Präparation

Die nach teilweiser Entfernung der Kortikalis 16-20 Std. fixierten markhaltigen Skeletteile wurden anschließend sofort mit absolutem Methanol innerhalb von 24 Stunden in steigenden Intervallen in 6 x gewechselten Portionen entwässert. Die Gewebstückchen wurden dann innerhalb von 24 Stunden durch 6 Portionen eines Einbettungsgemisches geführt, das aus dem mit Aluminiumoxid entstabilisierten Methacrylsäuremethylester, im Verhältnis 10,0: 2,5: 350,0 vermischt mit Plastoid N und vorher im Exsikkator getrocknetem Benzoylperoxid, bestand. Danach folgte in Glasröhrchen in einem Wasserbad von 50 Grad Celsius 60 Minuten lang die Einleitung der Polymerisation, anschließend erfolgte während etwa 20 Stunden bei

Dunkelheit und 34 Grad Celsius die vollständige Polymerisation.

Nach abgeschlossener Härtung wurden von diesen Blöcken mit dem Serienschmittmikrotom Modell 1130 der Fa. Jung, Heidelberg mit Messerhalter und Spezialmikrotommessern (Widia-Klingen) vom Compurwerk, München 2-4 μ dicke Schnitte angefertigt. Daran wurden folgende Färbungen durchgeführt: HE, Goldner, Giemsa sowie Giemsa modifiziert nach BURKHARDT, ferner Faserversilberung nach Gomori.

5. Histometrische Techniken

Die mikroskopische Auswertung wurde neben einfacher deskriptiver Bearbeitung im Wesentlichen histometrisch vorgenommen. Für die quantitativ-histometrische Bearbeitung nach dem Trefferverfahren wurde das Punktzähl-
okular nach BLASCHKE der Fa. Leitz, Wetzlar verwendet (Abb.1). Auf einer mäanderförmigen Grundlinie entstehen durch schrägverlaufende Sekanten 20 Zählpunkte. Gezählt wurden bei Anwendung der Treffermethode Zellen oder Strukturen, die unter den Schnittpunkten lagen. Der prozentuale Anteil an Zählpunkten einer histologischen Struktur ist proportional dem prozentualen Flächenanteil.

Um den Mäander herum verläuft ein Zählrechteck. Bei der Zellzahlbestimmung pro Flächeneinheit wurde gezählt, wieviel Zellen innerhalb des Rechtecks liegen. Die Anzahl der innerhalb des Rechtecks gezählten Zellen kann nach Eichung für die jeweiligen Vergrößerungen auf mm^2 umgerechnet werden. Diese Zellzahl sollte einerseits zusätzlich zu den flächenmäßig definierten Prozentwerten Vorstellungen über die absolute Gesamtzellzahl vermitteln. Andererseits sollten Plasmazellen, Mastzellen

und Mitosen erfaßt werden, die als Flächenelemente von untergeordneter Bedeutung sind und daher mit der Treffermethode nicht hätten ausgewertet werden können. Bei Megakaryozyten und Eosinophilen sollte zum Vergleich mit den Werten der Treffermethode die Zellzahl pro Flächeneinheit ermittelt werden. Die Gesamtzellzahl wurde nur bei wenigen für den Versuchsverlauf repräsentativen Tieren gezählt, für die anderen aus den Flächenprozentwerten des myeloischen Parenchyms interpoliert. Alle Auszählungen wurden an je 4 histologischen Schnitten pro Tier und Knochenmarksgebiet (Femurmark und Wirbelmark) bei 24-facher Objektivergrößerung durchgeführt. Pro Schnitt wurden 5 Zählfelder ausgezählt, somit 20 Zählfelder pro Markgebiet bei jedem Tier.

Mit der Treffermethode sollten 8 Strukturelemente erfaßt werden: Erythropoese, eosinophile Granulozyten, Megakaryozyten und die Gruppe "Nichterythropoese", die das restliche myeloische Parenchym umfaßt und im Wesentlichen der Granulozytopoese entspricht. Außerdem von den nichtparenchymatösen Strukturen: Fettzellen, Gefäße, Blutungen und Oedeme.

6. Statistische Methoden

Die statistische Auswertung erfolgte für jede der ausgezählten histologischen Strukturen mit Hilfe der Varianzanalyse. Die ermittelten histometrischen Werte konnten aus technischen und Materialgründen nur teilweise der statistischen Bearbeitung unterzogen werden. Von dieser mathematischen Bearbeitung ausgeschlossen wurden Tiere, von denen nur unzureichendes Untersuchungsmaterial gewonnen werden konnte (z.B. durch vorzeitiges Absterben), ferner Tiere, bei denen Bauchhautdefekte mit Wundsekretion veränderte Versuchsbedingungen sowie ab-

weichende hämatologische und markhistologische Befunde herbeigeführt hatten. Nach dieser Auswahl, sowie durch Auslosen gingen in die statistische sowie graphische Auswertung pro Vergiftungsperiode je 2 Tiere ein, deren grundlegende Versuchsbedingungen vergleichbar waren. Tabelle 1,2 und 3 zeigen die Werte aller Tiere. Die Werte der von der statistischen Auswertung ausgeschlossenen Tiere stehen in Klammern, unten führen wir auch die Werte dreier Tiere auf, die völlig von ihrer Gruppe abweichen. (Vergleiche Abschnitt Fehlerdiskussion).

Fehlerdiskussion

BROWNING (1965) weist auf die vielgestaltigen Beobachtungen in klinischen Arbeiten hin und macht unterschiedliche Exposition und besonders die individuelle Resistenz dafür verantwortlich. Nach SPECK (1966) war bei Kaninchen eine 2 - 9 Wochen dauernde Benzolbehandlung erforderlich bis die Leukozyten einen bestimmten unteren Grenzwert erreicht hatten. Es mußte also bei der Wahl der Dosierung die große Schwankungsbreite der Resistenz der Versuchstiere berücksichtigt werden. In Vorversuchen ist daher in Anlehnung an Werte der Literatur eine Benzoldosierung festgelegt worden, die eine modellartige Schädigung des blutzellbildenden Knochenmarks bei möglichst geringer Streuung der Resultate gewährleistete. Alle wichtigen Organe der Versuchstiere wie Herz, Lungen, Leber, Milz, Nieren und Darm wurden an Paraffinschnitten histologisch untersucht, um Krankheiten auszuschließen, die möglicherweise Einfluß auf die Blutzellbildung hätten haben können. Die Möglichkeit von Zählfehlern bei Auswertung von Knochenmarksschnitten bei nur einer histologischen Färbung

sollte vermieden werden. Deshalb wurden für die histometrische Auswertung mehrere verschiedene Schnittfärbungen bearbeitet (Vergleiche "Material und Methoden") und deren Resultate ebenfalls der Varianzanalyse unterworfen.

Die Fehlerbreite bei der Treffermethode wird für die hierbei angewandte Zähltechnik (BLASCHKE-Zählokular, 400 Zählpunkte pro Tier und Markgebiet) mit maximal $\pm 1,6 \%$ angegeben.

Der gewählte Stichprobenumfang erscheint damit für die bearbeitete Fragestellung ausreichend.

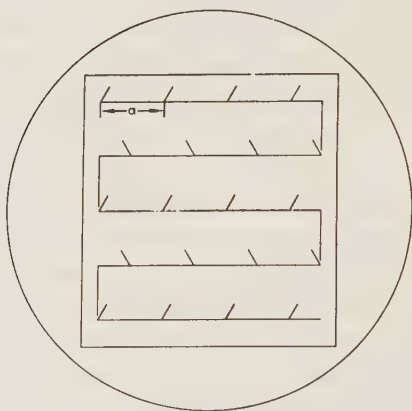


Abb.1. Strichplatte des LEITZ-Zählokulars mit 20 Zählpunkten, rechteckigem Zählfeld und einer Schnittkreislinie. (a = Zählpunktabstand).

Hämatologische Befunde

1. Hämoglobin

Der Hämoglobingehalt zeigt im Verlauf der Vergiftung nur einen geringen Rückgang. Er liegt bei den unvergifteten Tieren zwischen 13,0 und 15,5 g%. Er beträgt im Mittel 14,2 g% und sinkt auf ein Minimum von 10,4 g% bei stärkster Vergiftung ab.

2. Erythrozyten

Ebenso nimmt die Erythrozytenzahl nur gering ab. Die Normalwerte liegen zwischen 7,36 und 10,39 Millionen pro mm³, im Mittel bei 8,72 Millionen pro mm³. Mit zunehmender Vergiftungsdauer kommt es zu einer Abnahme auf ein Minimum von 6,2 Millionen.

3. Leukozyten

Die Normalwerte zeigen starke individuelle Schwankungen zwischen 7600 und 15900 Zellen pro mm³. Schon nach 3 Tagen Benzol erfolgt ein Abfall auf 5000-6000, nach 7 Tagen Benzol bereits auf 1300-1400, im weiteren Verlauf bis auf ein Minimum von 120 pro mm³.

4. Differentialblutbild

a) Lymphozyten

Die Lymphozyten zeigen Normalwerte von 63-88 %, im Mittel 77 % und nehmen gleichmäßig auf ein Minimum von 10 % ab.

b) Stabkernige Granulozyten

Die Stabkernigen sind sehr selten (0-3 %) und zeigen im Verlauf der Vergiftung eine geringe Zunahme auf Höchstwerte von 8 %.

c) Segmentkernige Granulozyten

Die segmentkernigen Granulozyten kommen zu 10-30 % vor, im Mittel 18,5 % und steigen gleichmäßig auf maximal 80 % an.

d) Eosinophile Granulozyten

Die eosinophilen Granulozyten zeigen starke individuelle Schwankungen, sie kommen zu 1-8 % vor und fallen bereits nach 7-tägiger Vergiftungsdauer auf null ab.

e) Unreife oder nicht-hämatopoetische Zellformen treten während der Dauer des Versuches im peripheren Blut nicht auf.

Histologische Befunde

Normales Knochenmark der Ratte zeigt ein zellreiches Gewebe, besonders treten die eosinophilen Granulozyten und die Mastzellen durch ihre markant färbbaren Granula hervor, ebenso die Erythropoesenester mit ihren runden stärker angefärbten Kernen und die Megakaryozyten durch ihre Größe. Bindegewebige Strukturen sind seltener, vereinzelt finden sich Anschnitte größerer Gefäße und die Marksinus sind schmal und unauffällig. Abb.2 zeigt normales zell dichtes Femurmark eines nicht mit Benzol behandelten Kontrolltieres. Femurmark wird nicht von Spongiosabälkchen durchzogen, das Wirbelmark ist dagegen durch Spongiosa unterteilt. Mit steigender Vergiftungs-

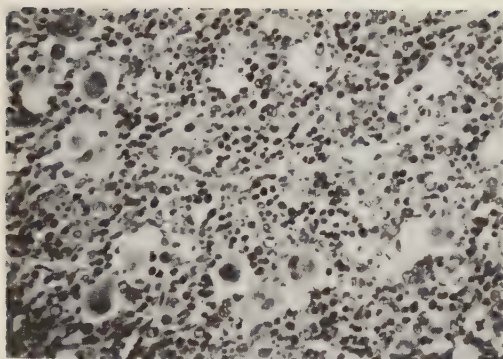


Abb.2. Normales zellreiches Femurmark einer nicht mit Benzol behandelten Ratte. Fbg: Goldner, Vergr. 320 x.

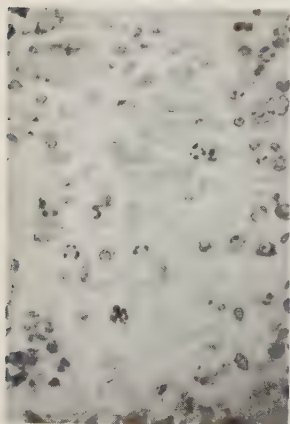


Abb.3

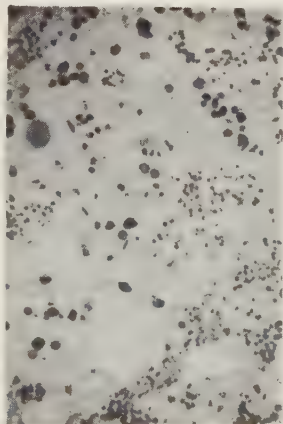


Abb.4

Abb.3. Zellarmes Femurmark einer 22 Tage lang mit Benzol behandelten Ratte mit degenerativen Zellveränderungen in Form sog. Hämatoxylinkörperchen.

Fbg: Giemsa modifiziert nach Burkhardt, Vergr. 500 x.

Abb.4 Zellarmes Femurmark einer 22 Tage lang mit Benzol behandelten Ratte mit Blutungen und Oedemseen.

Fbg: Giemsa modifiziert nach Burkhardt, Vergr. 320 x.

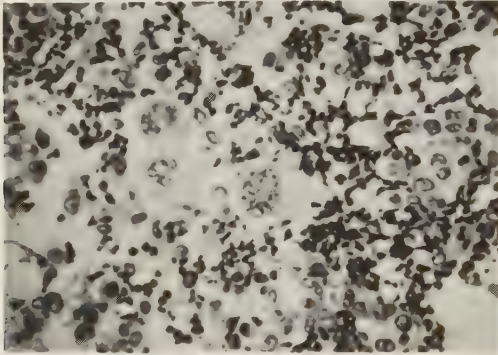


Abb.5. Zellarmes Femurmark einer stark benzolgeschädigten Ratte mit ausgedehnten Blutungen.

Fbg: Goldner, Vergr. 500 x.

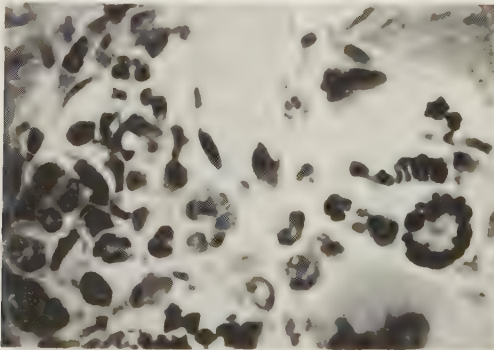


Abb.6. Zellarmes Wirbelmark einer 14 Tage lang mit Benzol behandelten Ratte mit degenerativer Zellveränderung:

sog. Hämatoxylinkörperchen. Fbg: Goldner, Vergr. 1250 x.

dauer findet sich eine Abnahme des Parenchyms und eine Zunahme der nichtparenchymatösen Strukturen (Abb. 3 u.4). Die Fettzellen nehmen besonders im Wirbelmark zu, die Marksinus sind erweitert, Blutungen zeigen bei längerer Vergiftung eine starke Zunahme (Abb. 5). Vereinzelt treten auch Oedemseen auf (Abb. 4). Andere Veränderungen sind an den mesenchymalen Strukturen nicht zu beobachten. Die Gitterfasern und die kollagenen Fasern nehmen nicht zu. An den Gefäßen größeren Kalibers finden sich keine Veränderungen.

Bei der Abnahme des Parenchyms fällt besonders der Rückgang der Eosinophilen und der Mastzellen auf, auch die Erythropoesenester nehmen stark ab. Außerdem treten zahlreiche atypische Kernteilungsfiguren mit Verklumpung der Chromosomen auf, sowie Übersegmentierungen der Megakaryozytenkerne und die starke Auflockerung ihres Chromatins wie bei Zunahme des sog. Kernsaftes, was auch bei anderen unreifen Zellformen zu beobachten ist; ferner sehr reichlich scholliger Kernzerfall, sog. Hämatoxylinkörperchen (Abb. 6), dabei auch geschrumpftes, verdichtetes und homogenisiertes, verstärkt eosinrotes Zytoplasma.

Statistische Auswertung

Die histometrischen Werte bestimmter, nach den oben genannten Gesichtspunkten ausgewählter Tiere wurden einer Varianzanalyse unterzogen. Sie wurden nach 4 Kriterien = Einflußgrößen (EG) geordnet:

- A 4 verschiedene Färbungen histolog. Stufenschnitte
- B 2 verschiedene Knochenmarksgebiete pro Ratte
- C 2 verschiedene Ratten pro Vergiftungsgruppe
- D Anzahl der Tage der jeweiligen Vergiftungsdauer

Da nach jedem Versuchsabschnitt jeweils 2 andere Versuchstiere getötet und ausgewertet wurden, ist die EG C als "nested factor" anzusehen. EG C ist von EG D abhängig: C(D). Die EG A, B und D dagegen treten in allen Kombinationen auf. Dieses aus den genannten 4 Einflußgrößen gebildete System mit einem "nested factor" wird als partiell-hierarchisches System bezeichnet.

Die hier gewählte Reihenfolge der EG besagt nichts über ihre Bedeutung für die Aussage der Arbeit.

Die mit Hilfe der Treffermethode und der Zellzählung pro Flächeneinheit gewonnenen Werte wurden gemäß den Einflußgrößen und hinsichtlich der Beziehungen zwischen den Einflußgrößen durchgerechnet. Die ermittelten F-Werte (siehe Varianzanalysetabellen) wurden mit der F-Werttabelle für $p < 0,05$ (5 %ige Irrtumswahrscheinlichkeit) oder für $p < 0,01$ (1 %ige Irrtumswahrscheinlichkeit) verglichen und daraus die Signifikanzen abgelesen.

Die Durchführung statistischer Tests zum Vergleich der einzelnen Mittelwerte erübrigt sich, da die Mittelwertsdifferenzen sowohl hinsichtlich Größenordnung als auch Richtung eindeutig interpretierbar sind.

Für unsere Auszählung hatten wir mehrere Färbungen gewählt, um eventuelle Verzerrungen der Ergebnisse durch nur eine Färbung zu vermeiden und die günstigste Färbung herauszufinden. Tatsächlich finden wir in der Untersuchung nach der Treffermethode für die EG A bei einigen Gruppen signifikante Unterschiede, allerdings auch für die Fettzellen, die ja nur als ungefärbte Aussparung imponieren. Eine einseitige Verschiebung bei einer Färbemethode haben wir nicht gefunden. Da pro Färbung 5 Zählfelder ausgezählt wurden, haben wir also bei der Treffermethode als EG A (= Färbungen) jeweils die Summe von fünf Zählfeldern. Bei der Zählung pro

Erythropoese				Nichterythropoese				Eosinophile				Megakaryozyten			
EG	FG	SAQ	MAQ	F	SAQ	MAQ	F	SAQ	MAQ	F	SAQ	MAQ	F	SAQ	F
A	3	45,18	15,05	6,89	696,21	232,07	14,88	136,59	45,53	7,14	6,17	2,05	0,59	6,17	2,05
B	1	222,89	222,89	82,11	1170,03	1170,03	15,23	7,50	7,53	1,74	14,28	14,28	3,36	14,28	3,36
C(D)	7	119,25	17,04	-	1690,49	241,50	-	99,32	14,19	-	25,75	3,68	-	25,75	3,68
D	6	723,93	120,65	7,08	14207,71	2367,95	9,80	948,71	158,11	11,13	83,17	18,86	3,76	83,17	18,86
AB	3	56,75	18,91	11,66	218,17	72,72	2,02	4,31	1,43	0,006	0,21	0,07	0,01	0,21	0,07
AC(D)	21	44,75	2,13	-	327,50	15,59	-	133,80	6,37	-	72,74	3,46	-	72,74	3,46
AD	18	167,57	9,30	5,73	1002,78	55,71	1,55	257,71	14,31	0,06	33,82	1,87	0,50	33,82	1,87
BC(D)	7	18,99	2,71	1,78	537,74	76,82	0,52	30,17	4,31	0,007	29,74	4,25	0,95	29,74	4,25
BD	6	92,11	15,35	9,46	1190,71	198,45	5,53	36,17	6,02	0,02	13,71	2,28	0,60	13,71	2,28
ABD	18	153,25	8,51	5,24	849,07	47,17	1,31	62,25	3,62	0,01	65,28	3,62	0,96	65,28	3,62
ABC(D)	21	40,99	1,95	-	753,24	35,87	-	26,05	1,24	-	78,74	3,75	-	78,74	3,75

Fettzellen				Gefäße				Blutungen				Oedeme			
EG	FG	SAQ	MAQ	F	SAQ	MAQ	F	SAQ	MAQ	F	SAQ	MAQ	F	SAQ	F
A	3	395,64	131,88	6,52	96,60	32,20	1,50	254,60	84,86	8,95	9,03	3,01	0,72	9,03	3,01
B	1	3300,57	3300,57	102,97	948,89	948,89	51,04	120,14	120,14	1,74	26,03	26,03	7,11	26,03	7,11
C(D)	7	708,62	101,23	-	831,27	118,75	-	3043,27	434,78	-	34,86	4,98	-	34,86	4,98
D	6	4037,98	672,99	6,64	366,83	61,13	0,54	15390,42	2565,07	5,89	72,98	12,16	2,44	72,98	12,16
AB	3	221,64	73,88	5,84	358,32	119,44	3,83	767,35	255,78	11,27	1,46	0,48	0,22	1,46	0,48
AC(D)	21	424,37	20,21	-	450,11	21,43	-	198,99	9,46	-	87,61	4,17	-	87,61	4,17
AD	18	343,23	19,06	1,50	931,01	51,72	1,66	250,14	13,89	0,61	56,58	3,14	1,43	56,58	3,14
BC(D)	7	224,36	32,05	0,003	130,11	18,59	0,89	481,99	68,86	2,51	25,62	3,66	0,14	25,62	3,66
BD	6	1142,30	190,38	15,05	185,23	30,87	0,99	128,60	21,43	0,94	29,58	4,93	2,25	29,58	4,93
ABD	18	516,48	28,79	2,26	660,05	36,66	1,17	589,39	32,74	1,44	59,41	3,30	1,51	59,41	3,30
ABC(D)	21	265,61	12,65	-	653,41	31,11	-	476,49	22,69	-	45,87	2,18	-	45,87	2,18

Varianzanalysetabellen für die Zählgruppen der Untersuchungen nach der Treffermethode.

EG = Einflußgrößen, FG = Freiheitsgrade, SAQ = Summe aller Abweichungsquadrate, MAQ = Mittlere Abweichungsquadrate.

Megakaryozyten				Eosinophile				Mastzellen			
EG	FG	SAQ	MAQ	F	SAQ	MAQ	F	SAQ	MAQ	F	
A	9	15,92	1,76	0,22	497,46	55,27	0,49	29,65	3,29	0,82	
B	1	163,55	163,55	14,55	109,37	109,37	4,14	594,51	594,51	43,17	
C(D)	7	250,74	35,82	-	6899,61	985,66	-	144,69	20,67	-	
D	6	413,53	68,92	1,92	69844,73	11640,78	11,81	1060,47	176,74	8,55	
AB	9	55,44	6,16	1,44	204,51	22,72	0,35	53,98	5,99	1,24	
AC(D)	63	488,24	7,75	-	6991,11	110,97	-	251,30	3,99	-	
AD	54	399,32	7,39	1,72	3415,26	63,24	0,97	150,74	2,79	0,58	
BC(D)	7	78,65	11,24	4,09	184,82	26,40	0,91	96,39	13,77	6,57	
BD	6	153,89	25,64	5,99	220,65	36,77	0,56	690,98	115,16	23,97	
ABD	54	414,10	7,66	1,79	3255,20	60,28	0,92	212,51	3,93	0,81	
ABC(D)	63	269,34	4,26	-	4088,92	64,90	-	304,59	4,83	-	

A	9	21,96	1,15	0,90	2673	1,40	1,21
B	1	131,14	131,14	114,93	11,1411,14	6,06	
C(D)	7	16,48	2,35	-	25,15	3,59	-
D	6	82,18	13,69	5,81	162,9627,16	7,55	
AB	9	18,74	0,98	1,01	14,53	0,76	0,60
AC(D)	133	170,26	1,28	-	154,07	1,16	-
AD	114	153,10	1,34	1,38	132,60	1,16	0,91
BC(D)	7	7,98	1,14	0,002	12,85	1,84	2,14
BD	6	19,24	3,20	3,31	32,36	5,39	4,26
ABD	114	124,61	1,09	1,12	135,20	1,18	0,93
ABC(D)	133	128,76	0,97	-	168,37	1,27	-

Varianzanalysetabellen für die Zählgruppen der Zählung pro Flächeneinheit.
 EG = Einflußgrößen, FG = Freiheitsgrade, SAQ = Summe aller Abweichungsquadrate, MAQ = Mittlere Abweichungsquadrate.

Flächeneinheit haben wir dagegen als EG A die einzelnen Zählfelder eingesetzt. Hier treten keine signifikanten Unterschiede auf.

Die bei der Besprechung der histometrischen Befunde und bei den graphischen Darstellungen verwendeten Werte entstammen diesem statistisch durchgerechneten Zahlenmaterial (siehe Tab. 4,5,6 und Abb. 7 ff.).

Histometrische Befunde

A. Untersuchungen mit der Treffermethode

1. Myeloisches Parenchym

Bei den unbehandelten Kontrolltieren besitzt das myeloische Parenchym im Markraum des Femur einen durchschnittlichen prozentualen Flächenanteil (pFA) von 78 % (77-80 %), im Markraum der Wirbel (ohne Knochenspongiosa) 86 % (85 - 88 %). Unter der toxischen Belastung geht dieser Anteil kontinuierlich auf 36 % im Femurmark (FM) bzw. 25 % im Wirbelmark (WM) zurück, also auf 46 % bzw. 29 % des Ausgangswertes (siehe Tab. 4 und Abb. 7).

a) Erythropoese

Der pFA der Erythropoesenester zeigt einen für $p < 0,01$ hochsignifikanten Unterschied zwischen den Markbereichen und eine signifikante Abnahme in den Vergiftungsgruppen. Er beträgt bei den Kontrolltieren im FM durchschnittlich 9,4 %, im WM 8,5 %. Er nimmt im FM gleichmäßig bis 0,5 % ab, im WM sinkt er bereits nach 3-tägiger Benzolbehandlung (= 2. Versuchstiergruppe) auf 3 % und schließlich nach 22 Tagen Benzol (= 7. Versuchstiergruppe) auf null (siehe Tab.4 und Abb. 8).

b) Eosinophile Granulozyten

Der pFA der Eosinophilen zeigt keinen signifikanten Unterschied zwischen den Markbereichen. Die zeitliche Abnahme ist für $p < 0,01$ deutlich signifikant. Der pFA geht von durchschnittlich 8,6 % bei den Kontrolltieren ebenfalls schon in Gruppe 2 zurück auf 4,7 % und sinkt in Gruppe 4 (10 Tage Benzol) unter 10 % des Ausgangswertes (siehe Tab. 4 und Abb. 9).

c) Megakaryozyten

Der pFA der Megakaryozyten zeigt auf Grund ihrer geringen Zahl in dieser Zählung keinen signifikanten Unterschied zwischen den Markbereichen und zwischen den Vergiftungsgruppen. Seine Abnahme ist nur gering von 3,6 % auf 2,4 % (siehe Tab. 4). Zur Kontrolle wurden die Megakaryozyten auch als Zellzahl pro Flächeneinheit ausgewertet (siehe unten).

d) Nichterythropoese

Unter diesem Begriff wurde das übrige Parenchym außer den Gruppen a bis c zusammengefaßt. Neben Granulozytopoeseelementen gehen auch seltene Zellgruppen wie Mastzellen, Plasmazellen, Retikulumzellen u.a. ein, die wegen ihrer geringen Zahl mit der Treffermethode nicht erfaßbar sind.

Der pFA der Nichterythropoese zeigt einen für $p < 0,01$ signifikanten Unterschied zwischen den Markbereichen und zwischen den Vergiftungsgruppen. Er beträgt bei den Kontrolltieren durchschnittlich 58 % im FM und 63 % im WM. In den ersten Tagen der Vergiftung finden wir keine Reaktion, erst ab Gruppe 4 (10 Tage Benzol) kommt es zu

einem Rückgang, der in Gruppe 7 (22 Tage Benzol) 58 % des Ausgangswertes im FM und 34 % des Ausgangswertes im WM erreicht (siehe Tab. 4 und Abb. 11).

2. Nichtparenchymatöse Strukturen

Unter diesem Begriff haben wir Fettzellen, Gefäße, Blutungen und Oedeme zusammengefaßt. Der pFA beträgt bei den Kontrolltieren 22 % im FM und 14 % im WM (ohne Spongiosa) und steigt mit fortschreitender Vergiftung kontinuierlich auf 64 % bzw. 75 % an (Tab. 5 und Abb. 7).

a) Fettzellen

Der pFA zeigt einen für $p < 0,01$ hochsignifikanten Unterschied zwischen den Markbereichen und einen für $p < 0,05$ signifikanten Unterschied zwischen den Vergiftungsgruppen. Er beträgt bei den Kontrolltieren 4,5 % im FM und 3,0 % im WM. Mit zunehmender Vergiftung kommt es im FM zu einem geringgradigen Anstieg bis auf maximal 11,5 %, im WM dagegen erreichen die Fettzellen bei gleichmäßig starkem Anstieg bereits nach 10 Tagen Benzol einen pFA von 20,6 %, bei weiterer Vergiftung maximal 26,0 % (siehe Tab. 5 und Abb. 7).

b) Gefäße

Der pFA der Gefäße zeigt einen für $p < 0,01$ hochsignifikanten Unterschied zwischen den Markbereichen. Der Normalwert des pFA beträgt im FM 17,4 %, im WM 10,4 %. Zwischen den einzelnen Vergiftungsstufen und den Kontrolltieren bestehen keine signifikanten Unterschiede, bei den stärker vergifteten Tieren lassen sich allerdings die Marksinus kaum noch von den ausgedehnten

Blutungen unterscheiden, da ihre Wände nur noch fragmentarisch vorhanden sind (Tab. 5 und Abb. 13).

c) Blutungen

Der pFA der Blutungen nimmt ohne signifikanten Unterschied zwischen den Markgebieten von einem Ausgangswert von 0,2 % in den ersten Tagen nur gering zu, steigt in Gruppe 4 sprunghaft auf 15 % an und erreicht bei weiterer Vergiftung maximal 37 %. Der Unterschied zwischen den Vergiftungsgruppen ist für $p < 0,05$ signifikant. In die Flächegebiete gehen mit großer Wahrscheinlichkeit ekstatische Sinus mit dissoziierten Wänden ein, die nicht mehr sicher abgrenzbar sind (Tab. 5 und Abb. 14).

d) Oedeme

Die Oedeme spielen keine nennenswerte Rolle. Bei den Kontrolltieren kommen sie nicht vor. Sie stellen neben den Blutungen ein nichtkorpuskuläres Extravasat dar. Es besteht ein für $p < 0,05$ signifikanter Unterschied zwischen den Markbereichen, die zeitliche Zunahme ist nicht signifikant. Bei zunehmender Vergiftungsdauer steigt der pFA der Oedeme gleichmäßig auf 1,4 % im FM und 4,3 % im WM an (Tab. 5 und Abb. 12).

B. Untersuchungen der Zellzahl pro Flächeneinheit

1. Gesamtzellzahl

Bei den Kontrolltieren finden wir $18 \cdot 20000$ Zellen pro mm^2 im FM und 20-21000 Zellen pro mm^2 im WM. Im FM zeigt sich erst ab Gruppe 4 ein deutlicher Rückgang, im WM schon in Gruppe 2. Die Gesamtzellzahl sinkt maximal auf 4500 pro mm^2 im FM und 3900 im WM ab (Tab. 3 u. Abb. 15).

Bei der Gesamtzellzahl wurden nur kernhaltige Zellelemente, nicht jedoch Erythrozyten berücksichtigt.

2. Mitosen

Die Zahl der Mitosen pro mm^2 zeigt einen für $p < 0,05$ signifikanten Unterschied zwischen den Markbereichen und eine für $p = 0,01$ signifikante zeitliche Abnahme. Sie geht im FM von 60 auf 7 zurück, im WM von 52 auf 8. Wieder erfolgt die Abnahme im WM früher (Tab.6 u. Abb.16). Wegen der geringen Mitosezahlen am Ende des Versuchs wurde eine Aufschlüsselung nach den sich teilenden Zellarten nicht durchgeführt.

3. Plasmazellen

Die Zahl der Plasmazellen pro mm^2 zeigt einen für $p < 0,01$ hochsignifikanten Unterschied zwischen den Markbereichen und eine für $p < 0,05$ signifikante zeitliche Abnahme. Die Plasmazellen sind im FM doppelt so häufig wie im WM (74 bzw. 39 pro mm^2). Sie nehmen in beiden Markanteilen bis zu 50 % ab. (Tab. 6 und Abb. 17).

4. Mastzellen

Die Zahl der Mastzellen pro mm^2 zeigt signifikante Unterschiede für $p < 0,01$ sowohl zwischen den Markbereichen als auch zwischen den Vergiftungsgruppen. Die Mastzellen sind im FM um ein Vielfaches häufiger als im WM (bis 395 pro mm^2 im FM, bis 53 pro mm^2 im WM). (Tab.3,6). Ihre Zahl geht in beiden Markbereichen bis auf null zurück. Wegen starker individueller Unterschiede zeigt Abb. 18 die Werte der Einzeltiere.

5. Eosinophile Granulozyten

Auch in dieser Zählung finden wir keinen signifikanten Unterschied zwischen den Markbereichen. Die zeitliche Abnahme ist für $p < 0,01$ signifikant. Die Zahl sinkt von bis zu 2000 pro mm^2 nach 3 Tagen bereits unter ein Drittel ab und in Gruppe 4 unter 10 % des Ausgangswertes. Maximal sinken die Eosinophilen auf 7 pro mm^2 ab. (Tab. 6 und Abb. 10).

6. Megakaryozyten

Die Megakaryozyten sind im WM deutlich häufiger als im FM (110 bzw. 64 pro mm^2) und sinken im FM um $1/3$, im WM um die Hälfte ab (Tab. 6 und Abb. 19). Der Unterschied zwischen den Markbereichen ist für $p < 0,01$ signifikant, die zeitliche Abnahme ist nicht signifikant.

Tier-			Erythrop.		Nichtery.		Eosinoph.		Megakary.		Parenchym	
Nr.	VD	G	F	W	F	W	F	W	F	W	F	W
26	0	1	9,50	8,75	59,00	61,75	6,50	9,50	3,50	4,25	78,50	84,25
22			9,25	8,25	57,25	65,75	9,75	8,75	1,50	5,25	77,75	88,00
(27)			11,00	-	57,00	-	10,00	-	2,40	-	80,40	-
1	3	2	5,50	1,50	60,75	58,75	3,50	4,75	3,75	5,75	73,50	70,75
3			9,75	4,50	64,75	64,25	3,25	7,25	4,75	3,50	82,50	79,50
(2)			4,50	5,00	69,00	59,50	4,75	7,50	3,50	6,75	81,75	78,75
4	7	3	7,25	2,50	61,25	49,75	5,00	7,75	3,50	5,00	77,00	65,00
21			4,00	3,00	67,25	65,00	1,75	2,00	5,50	5,75	78,50	75,75
(5)			7,75	11,75	64,75	49,00	0,50	0,25	5,00	5,50	78,00	66,50
6	10	4	7,00	0,25	49,50	39,00	0,50	0,25	2,50	2,00	59,50	41,50
24			5,50	0,25	63,00	43,25	0,75	0,50	3,50	3,75	72,75	47,75
(11)			9,25	7,25	58,50	60,75	1,50	1,25	4,25	1,75	73,50	71,00
18	14	5	2,00	0,00	57,25	45,00	2,25	1,25	2,75	4,25	64,25	50,50
19			4,00	1,75	46,50	36,00	0,75	0,25	3,00	2,00	54,25	40,00
13	17	6	7,75	4,50	54,00	54,75	1,00	0,75	1,75	3,00	64,50	63,00
15			4,00	1,75	54,00	43,25	0,75	0,25	2,50	2,50	61,25	47,75
7	22	7	0,50	0,00	41,25	23,00	0,25	0,00	1,75	2,75	43,75	25,25
9			0,50	0,00	25,50	21,25	0,00	0,00	3,00	3,50	29,00	24,75
16	7		0,50	0,00	40,00	22,25	0,00	0,25	4,50	4,50	45,00	27,00
12	22		14,00	8,00	55,50	56,50	4,75	4,50	2,25	3,25	76,50	72,25
17	22		12,75	7,50	52,75	53,50	0,50	0,50	4,00	5,50	70,00	67,00

Tab.1. pFA der mit der Treffermethode quantifizierten Komponenten des myeloischen Parenchyms von Femurmark (F) und Wirbelmark (W) einzelner Ratten nach verschiedenen langer Benzolintoxikation. In () Werte von Tieren, die bei den statistischen Berechnungen nicht berücksichtigt wurden. Unten gesondert die Versuchstiere 16,12 und 17, deren Werte infolge ungewöhnlich starker individueller Schwankungen erheblich von den gleichartig behandelten Versuchstieren abweichen.

(VD = Vergiftungsdauer, G = Gruppe, Nichtery. = Nichterythropoese, poese, entspricht der Granulozytopoese)

Nr.	VD	G	Fettzellen		Gefäße		Blutungen		Oedeme		Nichtpar.	
			F	W	F	W	F	W	F	W	F	W
26	0	1	3,25	2,75	18,25	12,25	0,00	0,75	0,00	0,00	21,50	15,75
22			5,75	3,50	16,50	8,50	0,00	0,00	0,00	0,00	22,25	12,00
(27)			8,00	-	11,60	-	0,00	-	0,00	-	19,60	-
1	3	2	1,75	5,50	24,75	17,75	0,00	4,75	0,00	1,25	26,50	29,25
3			0,50	6,50	16,50	11,00	0,00	2,75	0,50	0,25	17,50	20,50
(2)			7,00	9,50	7,75	9,50	3,25	2,00	0,25	0,25	18,25	21,25
4	7	3	1,25	13,50	20,00	13,00	1,00	7,25	0,75	1,25	23,00	35,00
21			3,50	10,25	16,75	10,00	0,50	3,50	0,75	0,50	21,50	24,25
(5)			5,50	8,75	9,25	11,50	5,75	11,50	1,50	1,75	22,00	33,50
6	10	4	5,25	16,25	19,25	15,00	15,25	26,00	0,75	1,25	40,50	58,50
24			4,25	25,00	11,75	14,00	11,00	10,00	0,25	3,25	27,25	52,25
(11)			13,75	14,75	11,25	9,25	0,75	4,75	0,75	0,25	26,50	29,00
18	14	5	5,25	23,25	16,50	14,25	13,25	10,75	0,75	1,25	35,75	49,50
19			17,75	29,00	18,25	14,50	9,25	14,00	0,50	2,50	45,75	60,00
13	17	6	7,00	21,25	21,00	10,25	7,25	3,25	0,25	2,25	35,50	37,00
15			5,50	25,00	17,50	11,50	13,00	15,00	2,50	0,75	38,75	52,25
7	22	7	13,25	32,00	22,25	10,25	20,75	29,25	0,00	2,75	56,25	74,25
9			7,75	20,25	8,25	3,75	52,50	45,50	2,50	5,75	71,00	75,25
16	7		5,75	29,50	6,50	17,50	40,25	22,00	2,50	4,00	55,00	73,00
12	22		1,25	12,00	20,00	11,25	2,00	4,50	0,25	0,00	23,50	27,75
17	22		3,50	16,50	23,25	14,50	2,50	2,00	0,75	0,00	30,00	33,00

Tab.2. pFA der mit der Treffermethode quantifizierten Komponenten der nichtparenchymatösen Strukturen von Femurmark (F) und Wirbelmark (W) einzelner Ratten nach verschieden langer Benzolintoxikation. In () Werte von Tieren, die bei den statistischen Berechnungen nicht berücksichtigt wurden. Unten gesondert die Versuchstiere 16, 12 und 17, deren Werte infolge ungewöhnlich starker individueller Schwankungen erheblich von den gleichartig behandelten Versuchstieren abweichen.

(VD = Vergiftungsdauer, G = Gruppe, Nichtpar. = nichtparenchymatöse Strukturen).

Tier-	Gesamtzellz. Mega.						Eos.		Mastz. Plasma.Mit.					
Nr.	VD	G	F	W	F	W	F	W	F	W	F	W	F	W
26	0	1	18816	20136	60	103	1190	1250	244	49	69	33	63	35
22			20250	21024	68	100	2050	1945	76	42	79	46	56	70
(27)			19392	-	89	-	845	-	376	-	74	-	53	-
1	3	2	17496	16224	64	117	495	420	395	53	81	45	59	46
3			20736	12736	76	104	650	522	267	23	73	30	94	63
(2)			19656	18768	70	117	944	1040	119	42	48	28	63	48
4	7	3	18336	10416	59	86	704	667	231	3	74	32	53	40
21			19104	12032	64	114	310	425	165	3	78	33	30	40
(5)			12480	10624	78	73	66	30	89	3	60	40	66	55
6	10	4	9552	6624	64	92	49	49	13	16	35	25	81	30
24			17448	7536	64	84	53	99	46	7	38	22	55	27
(11)			17616	11328	48	82	23	122	69	33	51	22	48	27
18	14	5	15456	8032	78	110	386	158	36	0	87	28	35	25
19			8704	6384	57	30	73	26	23	0	61	23	30	27
13	17	6	10400	10064	63	61	33	59	16	0	50	20	27	35
15			9792	7664	46	26	7	3	10	0	28	18	22	33
7	22	7	4420	4112	56	60	139	49	10	0	26	17	2	8
9			4592	3952	30	35	7	7	0	0	56	18	12	8
16	7		-	-	78	100	20	16	79	49	35	28	35	10
12	22		-	-	81	61	779	687	3	0	64	-	78	-
17	22		-	-	66	101	188	145	33	0	64	-	84	-

Tab.3. Zellzahl pro mm^2 und Zellhäufigkeit pro mm^2 für einige ausgewählte Zellformen von Femurmark (F) und Wirbelmark (W) einzelner Ratten nach verschieden langer Benzolintoxikation. Werte der Tiere in () und 16,12,17 siehe Anmerkung bei Tab.1.

(VD = Vergiftungsdauer, G = Gruppe, Mega = Megakaryozyten, Eos = Eosinophile, Mastz. = Mastzellen, Plasma = Plasmazellen, Mit. = Mitosen).

Tier- G Nr.	Ery.		Nichtery.		Eos.		Mega.		Parenchym	
	F	W	F	W	F	W	F	W	F	W
1 22,26	9,4	8,5	58,1	63,8	8,1	9,1	2,5	4,7	78,1	86,1
2 1, 3	7,6	3,0	62,8	61,5	3,4	6,0	4,2	4,6	78,0	75,1
3 4,21	5,6	2,7	64,2	57,4	3,4	4,9	4,5	5,4	77,7	70,4
4 6,24	6,3	0,2	56,2	41,1	0,6	0,4	3,0	2,9	66,1	44,6
5 18,19	3,0	0,9	51,9	40,5	1,5	0,8	2,8	3,1	59,2	45,3
6 13,15	5,9	3,1	54,0	49,0	0,9	0,5	2,2	2,8	63,0	55,4
7 7, 9	0,5	0,0	33,4	22,1	0,1	0,0	2,4	3,1	36,4	25,2

Tab.4. pFA der Komponenten des myeloischen Parenchyms von Femurmark (F) und Wirbelmark (W) von je 2 Ratten nach verschieden langer Benzolintoxikation.

Arithmetische Mittelwerte der in Tab.1 aufgeführten Einzelwerte der nicht in () gesetzten Versuchstiernummern. Graphische Darstellungen dieser Werte siehe Abb. 7,8,9,11.

Tier- G Nr.	Fettz.		Gefäße		Blutungen		Oedeme		Nichtpar.	
	F	W	F	W	F	W	F	W	F	W
1 22,26	4,5	3,1	17,4	10,4	0,0	0,4	0,0	0,0	21,9	13,9
2 1, 3	1,1	6,0	20,6	14,4	0,0	3,7	0,3	0,8	22,0	24,9
3 4,21	2,4	11,9	18,4	11,5	0,7	5,4	0,8	0,8	22,3	29,6
4 6,24	4,8	20,6	15,5	14,5	13,1	18,0	0,5	2,3	33,9	55,4
5 18,19	11,5	26,1	17,4	14,4	11,3	12,4	0,6	1,8	40,8	54,7
6 13,15	6,3	23,1	19,2	10,9	10,1	9,1	1,4	1,5	37,0	44,6
7 7, 9	10,5	26,1	15,2	7,0	36,6	37,4	1,3	4,3	63,6	74,8

Tab.5. pFA der Komponenten der nichtparenchymatösen Strukturen von Femurmark (F) und Wirbelmark (W) von je 2 Ratten nach verschieden langer Benzolintoxikation.

Arithmetische Mittelwerte der in Tab.2 aufgeführten Einzelwerte der nicht in () gesetzten Versuchstiernummern. Graphische Darstellungen dieser Werte siehe Abb. 7,12,13,14.

Tier- G Nr.	Mega.		Eos.		Mastz.		Plasma.		Mit.	
	F	W	F	W	F	W	F	W	F	W
1 22,26	64	101	1620	1600	160	45	74	39	59	52
2 1, 3	70	110	572	471	331	38	77	37	76	54
3 4,21	61	100	507	546	198	3	76	32	41	40
4 6,24	64	88	51	74	29	11	36	23	68	28
5 18,19	67	70	230	92	29	0	74	25	32	26
6 13,15	54	43	20	31	13	0	39	19	24	34
7 7, 9	43	47	73	28	5	0	41	17	7	8

Tab.6. Zellzahl pro mm^2 und Zellhäufigkeit pro mm^2 für einige ausgewählte Zellformen von Femurmark (F) und Wirbelmark (W) von je 2 Ratten nach verschieden langer Benzolintoxikation.

Arithmetische Mittelwerte der in Tab.3 aufgeführten Einzelwerte der nicht in () gesetzten Versuchstiernummern.
Graphische Darstellungen dieser Werte siehe Abb.10, 15 -19.

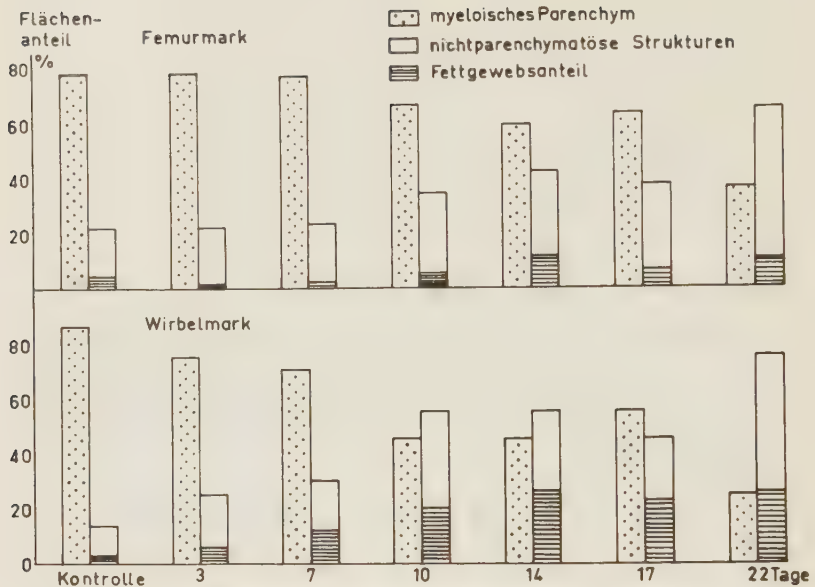
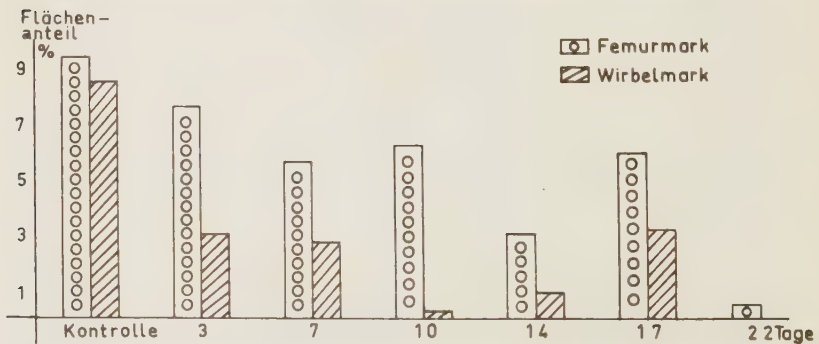


Abb. 7 Graphische Gegenüberstellung der prozentualen Flächenanteile von myeloischem Parenchym und nichtparenchymatösen Strukturen von Femurmark und Wirbelmark der Ratte mit besonderer Berücksichtigung des Fettgewebsanteils bei verschieden langer Benzolintoxikation.



A 8 Graphische Gegenüberstellung der prozentualen Flächenanteile der Erythropoese in Femurmark und Wirbelmark der Ratte bei verschieden langer Benzolintoxikation.

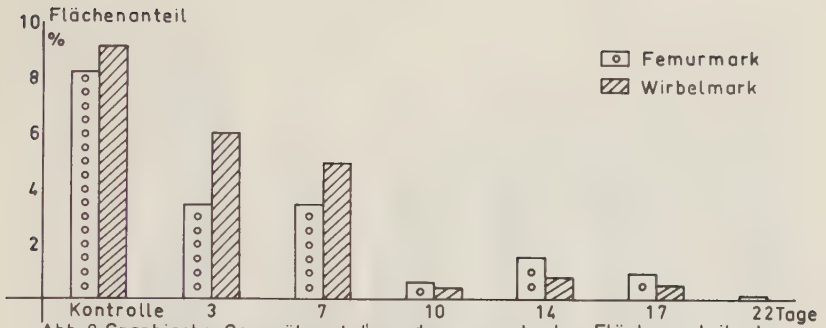


Abb.9 Graphische Gegenüberstellung der prozentualen Flächenanteile der eosinophilen Granulozyten in Femurmark und Wirbelmark der Ratte nach verschieden langer Benzolintoxikation.

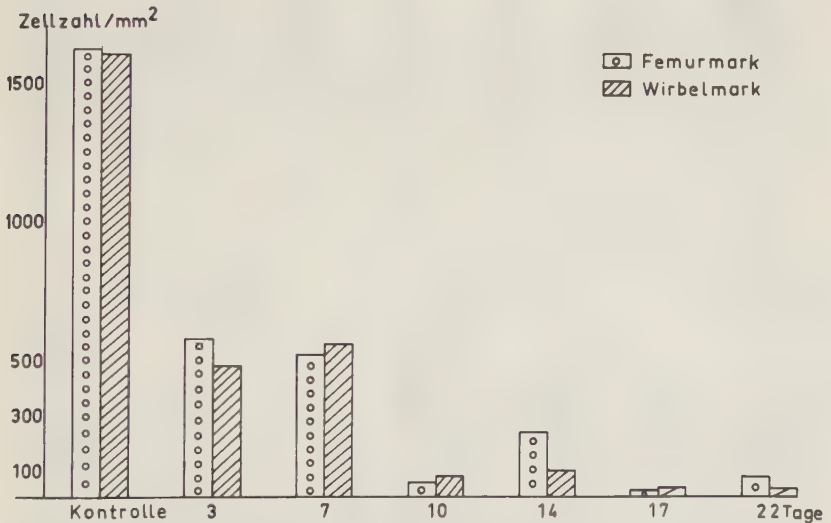


Abb.10 Graphische Gegenüberstellung der Anzahl der eosinophilen Granulozyten pro mm² in Femurmark und Wirbelmark der Ratte nach verschieden langer Benzolintoxikation.

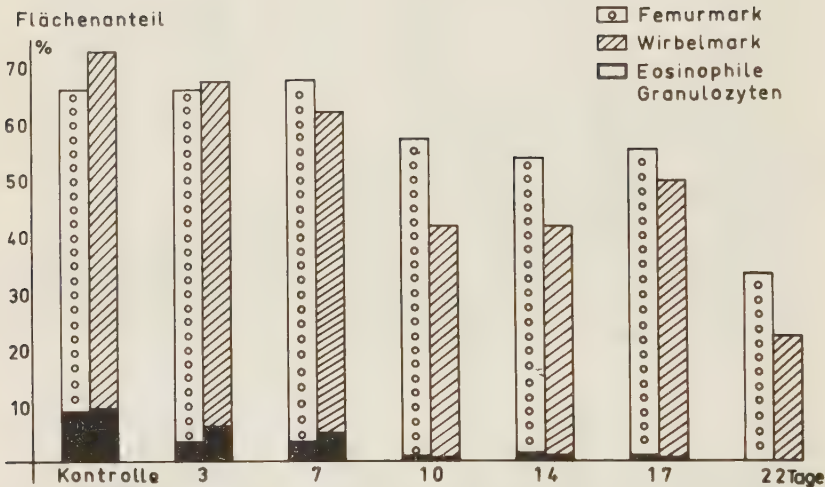


Abb.11 Graphische Gegenüberstellung der prozentualen Flächenanteile der Granulozytopoese in Femurmark und Wirbelmark der Ratte nach verschieden langer Benzolintoxikation mit besonderer Berücksichtigung der eosinophilen Granulozyten.

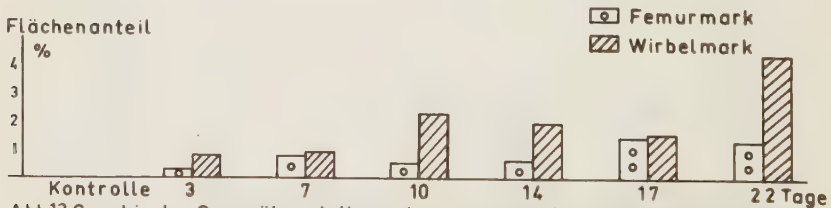
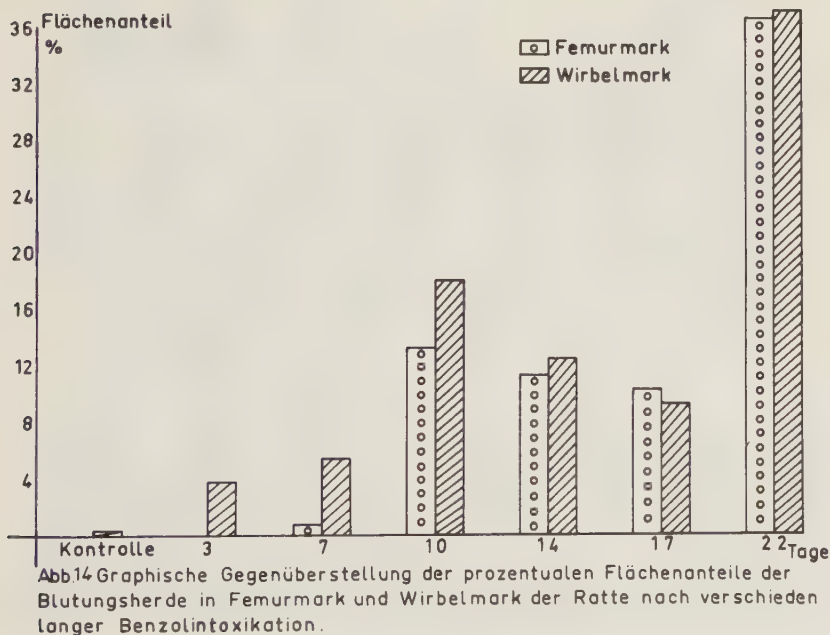
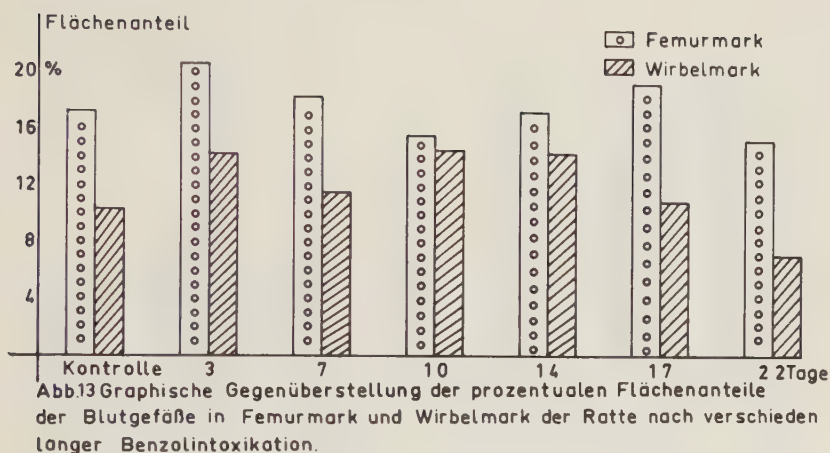
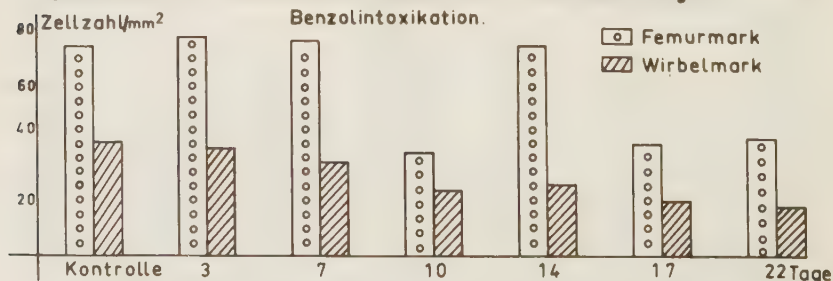
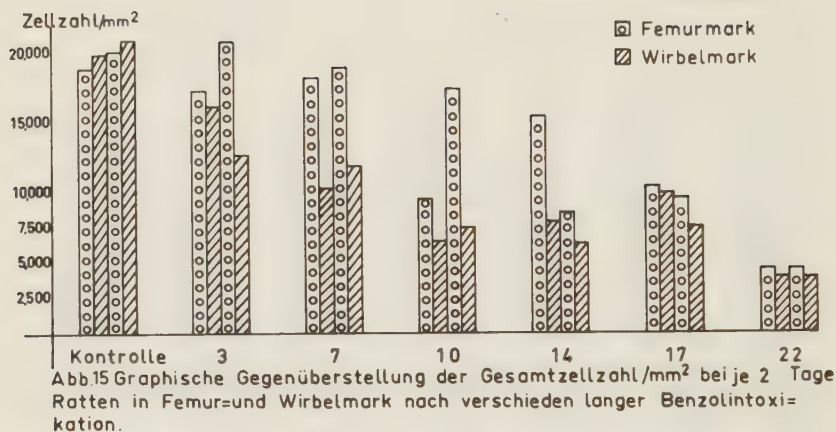


Abb.12 Graphische Gegenüberstellung der prozentualen Flächenanteile der Oedeme in Femurmark und Wirbelmark der Ratte nach verschieden langer Benzolintoxikation.





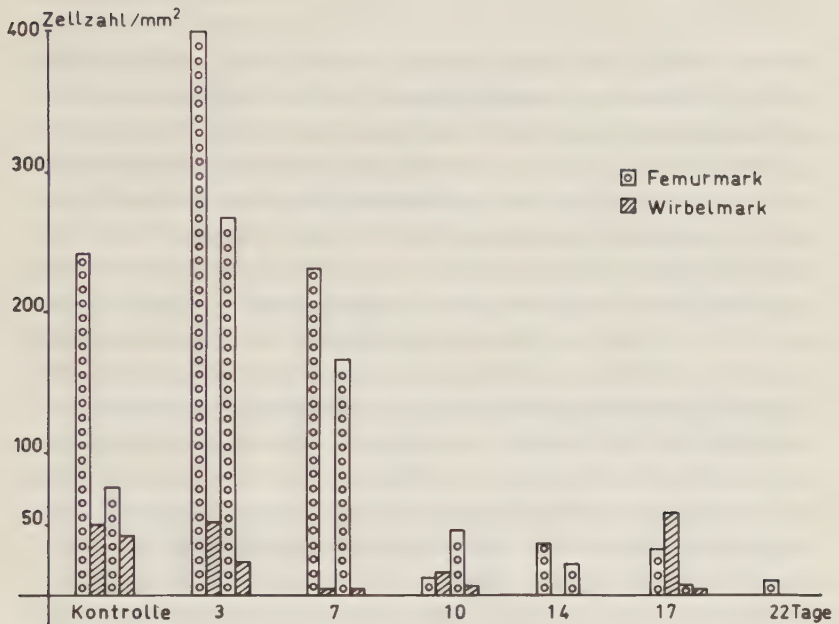


Abb.18 Graphische Gegenüberstellung der Mastzellzahl pro mm² im Femur = mark und Wirbelmark von je 2 Ratten bei verschieden langer Benzolbe = handlung

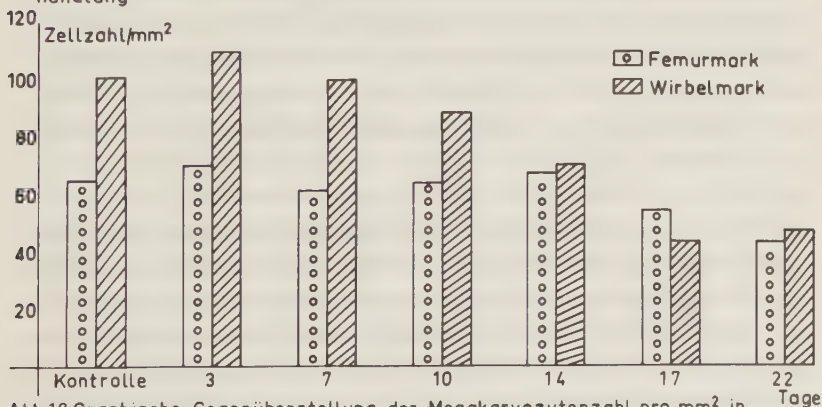


Abb.19 Graphische Gegenüberstellung der Megakaryozytenzahl pro mm² in Femurmark und Wirbelmark der Ratten bei verschieden langer Benzolbe = handlung

Diskussion

Die die Blutzellbildung schädigende Wirkung des Benzols ist mit hämatologischen Methoden in vielen klinischen, arbeitsmedizinischen und tierexperimentellen Publikationen belegt worden. Das Knochenmark und auch das Nervensystem werden durch die Speicherung des Benzols im Fettgewebe besonders geschädigt (ZEYER und SCHAADER 1961). Im Knochenmark findet man das Benzol nach SCHRENK (1941) gegenüber dem peripheren Blut 20-fach angereichert. Für sich allein kann die Benzolspeicherung im Fettgewebe die besondere Schädigung des Knochenmarks bei Ratten in unseren Versuchen nicht ausreichend erklären, da das Knochenmark bei den Kontrolltieren nur sehr wenig Fettzellen enthält. Das Benzol trifft aber im Knochenmark auf ein regenerativ hochaktives Organ, so daß die im folgenden angeführten einzelnen bekannten Schädigungsmechanismen sich gerade an diesem Organ und weniger an den geringer proliferierenden Geweben auswirken müssen. Die in dieser Arbeit mitgeteilten Befunde vermitteln ein Bild von den histologischen Schäden, die das Benzol am blutzellbildenden Knochenmark bewirkt. An welchen Angriffspunkten diese myelotoxische Wirkung des Benzols zustandekommt, ist noch nicht vollständig geklärt. Einige toxikologische Angriffspunkte des Benzols sind jedoch bekannt.

Von vielen Autoren wird eine Mitosegiftwirkung vom Kolchizintyp beschrieben mit Blockierung der Meta- und Anaphase, Atypien der Mitosen wie Chromosomenbrücken zwischen Tochtersternen oder heterotopen Chromosomengruppen, die zur Bildung atypischer Kerne führen (RONDANELLI 1961). Ferner soll auch eine Mitosegiftwirkung vom radiomimetischen Typ vorliegen (MATSUSHITA 1966). Die eigenen Beobachtungen zahlreicher atypischer Kern-

teilungsfiguren und Chromosomenverklumpungen stimmen damit gut überein.

BOJE et al. (1970) halten allerdings eine Mitosestörung für unwahrscheinlich und diskutieren als Angriffspunkt des Benzols eine Schädigung der Thymidilatsynthese und bzw. oder des Einbaus von Thymidin sowie eine Veränderung des intrazellulären Thymidinpools. Dadurch soll die DNS-Synthese gestört werden. Eine Schädigung in der Synthesephase mit Brüchen der DNS-Ketten nehmen PHILIP und JENSEN (1970) an. Der genaue Ansatzpunkt hierfür bleibt jedoch noch ungeklärt.

Wir finden an den Einzelzellen eine Übersegmentierung der Megakaryozytenkerne und eine Aufblähung der Kerne mit Auflockerung des Chromatins wie bei Zunahme des sog. Kernsaftes; außerdem reichlich scholligen Kernzerfall, sog. Hämatoxylinkörperchen. Mitosegiftwirkung und Störung der DNS-Synthese können somit als Hauptursache des starken Rückgangs der Mitosezahlen pro mm^2 und damit des allgemeinen beträchtlichen Rückgangs des myeloischen Parenchyms angesehen werden.

Andere Autoren (BROWNING 1965, JONEK et al. 1966/67) nehmen eine zusätzliche Blockierung eines oder mehrerer Enzymsysteme an, wahrscheinlich sogar eine völlige Erschöpfung der verschiedenen Fermentsysteme, da die Benzolschädigung lange anhält (MOESCHLIN et al. 1967). Es soll zu einer Blockierung von SS-SH-Gruppen an verschiedenen Enzymen kommen (JONEK et al. 1967). Schädigungen spezieller Enzymsysteme werden für andere Organe mehrfach beschrieben: Einen Aktivitätsabfall zeigen die alkalische Phosphatase der Leukozyten, sowie Phosphatasen in Leber und Nieren (BROWNING 1965). JONEK et al. (1966) fanden einen Aktivitätsabfall der Bernsteinsäuredehydrogenase, der Adenosintriphosphatase und der alkalischen Phosphatase in der Mauseleber. Glucose-6-

Phosphataseaktivität und Aktivität der sauren Phosphatase nahmen zu. Die gleichen Befunde erhoben JONEK et al. (1967) für die Mäuseniere.

Störungen im Zellstoffwechsel - bedingt durch die beschriebenen Enzymschädigungen - könnten für die im histologischen Bild deutliche Degranulierung der Eosinophilen und Mastzellen verantwortlich sein. Eigene stichprobenartige Untersuchungen der Naphthol-AS-D-Chlorazetat-Esterase-Aktivität (unveröffentlichte Ergebnisse) haben gezeigt, daß auch die neutrophilen Granulozyten einen teils erheblich verminderten Bestand bzw. verminderte Aktivität lysosomaler Enzyme aufweisen.

Vielfach wird angenommen, daß alle diese Wirkungen durch das Abbauprodukt Phenol bedingt werden, denn die dem Benzol verwandten Substanzen Toluol und Xylol, die nicht zu Phenol abgebaut werden, zeigen auch keine gleichartigen Wirkungen (MATSUSHITA 1966). Diese Befunde stimmen mit Ergebnissen von SPECK und MOESCHLIN (1968) überein, die am Kaninchen weder bei Toluol noch bei Xylol eine hemmende Wirkung auf die autoradiographisch untersuchte DNS-Synthese der Knochenmarkszellen oder auf die peripheren korpuskulären Blutelemente nachweisen konnten. Eine besondere Fermentausrüstung der Blutzellen mit Oxydasen soll die Bildung der toxischen Produkte noch fördern (MOESCHLIN 1956). Andererseits werden bestimmte Oxydasen geschädigt (BROWNING 1965).

Die klinischen Auswirkungen von Benzolintoxikationen sind nach der arbeitsmedizinischen und klinischen Literatur sehr verschiedenartig, wie in der Einleitung bereits beschrieben. Wichtigste Ursache für diese ganz verschiedenen Intoxikationsfolgen sind die vielfältigen und uneinheitlichen Expositionsbedingungen der publizierten Erkrankungsfälle. Diese verschiedenartigen Expositionsbedingungen sind in den Mitteilungen der Li-

teratur nicht oder nicht genügend gewürdigt worden. Als zweite wichtige Ursache der sehr unterschiedlichen Intoxikationsfolgen muß die individuelle Resistenz angesehen werden, die sich bisher noch nicht mit Hilfe bestimmter Befundkriterien genügend objektivieren ließ. Unterschiede im Ernährungszustand, im Fettgewebsreichtum und in den Abbaueigenschaften der untersuchten Personen oder Tiere können Faktoren dieser individuellen Resistenz sein. Ganz unerklärlich sind bis heute die beim Menschen nach längerer Latenzzeit ohne Benzoleinwirkung einsetzenden Benzolschäden.

Um unterschiedliche Expositionsbedingungen und individuelle Resistenz weitgehend auszuschalten, sollte unter besonderer Berücksichtigung der histologischen Knochenmarksveränderungen an einer Tiergruppe die kontinuierliche, über einen begrenzten Zeitabschnitt unter gleichbleibenden Bedingungen erfolgende Benzolintoxikation beobachtet werden. (Siehe auch Abschnitt Fehlerdiskussion).

SPECK (1966) fand beim Kaninchen eine vorwiegende Schädigung der Myelopoese bei weitgehend erhaltener Erythropoese. Eine stärkere Anfälligkeit der Erythropoese beschreibt MERKER (1962). Er fand vor allem Veränderungen wie Makrozytose, Makrovolämie und einen Anstieg des HbE. Im peripheren Blut werden sonst nur ein geringer Rückgang der Erythrozytenzahlen und des Hb beschrieben, sowie ein starker Rückgang der Leukozytenzahl (ITO 1965, MATSUSHITA 1966, SPECK 1966). Entsprechend den Befunden MERKERS (1962) am Menschen finden wir eine besonders starke Schädigung der Erythropoese auch im histologischen Schnitt. SPECK fand dagegen beim Kaninchen eine weitgehend erhaltene Erythropoese. Diese Differenzen könnten auf einer unterschiedlichen Proliferationsrate oder Empfindlichkeit der Erythropoese beruhen. Demgegen-

über zeigen Erythrozytenzahl und Hämoglobingehalt im peripheren Blut der Ratte nur eine gering rückläufige Tendenz, Allerdings ist die Versuchsdauer bei uns und in den anderen Arbeiten kürzer als die normale Erythrozytenlebensdauer, die bei der Ratte durchschnittlich 60 Tage beträgt (GANZONI 1970). Ein Teil der Abnahme der Erythrozytenzahl im peripheren Blut ist auf hämolytische Effekte des Benzols zurückzuführen (BROWNING). Ganz allgemein muß man als Ursache für die unterschiedlichen Reaktionen der einzelnen Zellelemente auf die Vergiftung vorwiegend Unterschiede in der Proliferation und der Lebensdauer annehmen.

Die Granulozytopoese zeigt einen weniger raschen gleichmäßigen Rückgang. Allerdings erfassen wir mit der Treffermethode auch die relativ vermehrten Retikulumzellen, die prozentual bei dem geringeren Rückgang ins Gewicht fallen. Nach eigenen unveröffentlichten Untersuchungen finden wir im Knochenmarksausstrich eine relative Zunahme der unreifen Vorstufen, die im Zusammenhang mit dem Rückgang der Granulozytopoese als Bestätigung der von SPECK (1966) auf Grund autoradiographischer Studien an Benzol-vergifteten Tieren angenommenen Reifungshemmung durch Benzol aufgefaßt werden kann. Die Granulozytenzahl im peripheren Blut sinkt entsprechend der Granulopoesebeschädigung gleichmäßig stark ab. Eine weitere Folge der Benzolvergiftung besteht in der Degranulierung der Eosinophilen und Mastzellen, ähnlich den Defekten der lysosomalen Enzyme bei den neutrophilen Granulozyten. Der sehr rasche und starke Rückgang dieser durch spezielle Granula ausgezeichneten Zellen ist wahrscheinlich teilweise dadurch verursacht, daß entsprechende Zellen infolge des Verlustes ihres charakteristischen Merkmals nicht mehr der Eosinophilen- bzw. Mastzellenpopulation zugerechnet werden.

Einen anfänglichen Anstieg der Megakaryozyten, der nach den eigenen Befunden als relativ zu deuten ist, bei abnehmenden Thrombozytenzahlen beschrieben WIRTSCHAFTER und BISCHEL (1960). Dies stimmt mit unseren Beobachtungen überein, die erst nach längerer Vergiftungsdauer eine geringe Abnahme der Megakaryozyten zeigen, während die Kernveränderungen auch hier eine Schädigung morphologischer sowie funktioneller Art anzeigen. Die Thrombozytenzahl nimmt ebenfalls ab (BOJE et al. 1970). LOB (1961) fand sogar eine besondere Empfindlichkeit der Thrombozyten gegenüber Benzol. Im Rahmen dieser Arbeit sind keine eigenen Thrombozytenuntersuchungen vorgenommen worden.

Wie für die Megakaryozyten sehen wir auch für die Plasmazellen die Ursachen der geringeren Abnahme in einer längeren Überlebensdauer im Vergleich zu anderen Zellarten. An dieser Zellrasse kann sich somit die Proliferationstoxizität des Benzols nicht auswirken.

Die beschriebene Abnahme des myeloischen Parenchyms wird durch eine Ausbreitung der sog. nichtparenchymatösen Strukturen ausgeglichen. Zu Beginn des Versuchs kommt es zunächst zu einer Erweiterung der Sinus, die zu einer Sinuswanddissoziation (BURKHARDT) führt. Als Ursache dafür kommen mehrere Faktoren in Betracht. Die Sinuserweiterung weist bereits auf einen mechanischen Faktor hin, der sich aus den veränderten Druckverhältnissen zwischen dem Gewebsdruck des myeloischen Parenchyms einerseits und dem Blutdruck in der Sinusstrombahn andererseits ergibt. Da Gefäß Erweiterungen rheologisch Strömungsverlangsamung bedeuten, könnte eine Verminderung des O_2 -Angebotes an die Sinusendothelzellen einen weiteren schädigenden Faktor darstellen. Wenn sich damit die 20-fache Benzolkonzentration im Knochenmark gegenüber dem Blut mit den bereits angeführten Wirkungsmechanismen kombiniert, werden die häufigen Si-

nuswandläsionen und die bei fortschreitender Vergiftung signifikant zunehmenden Blutungsherde verständlich, während an den übrigen Organen keine Blutungen auftreten. In diesen Zusammenhängen kann auch ein Gegenargument gegen die von STODTMEISTER (1957) und FLIEDNER (1957) vertretene Auffassung gesehen werden.

Bei der histometrischen Auswertung ist deswegen eine präzise Unterscheidung der mit Erythrozyten angefüllten präformierten Räume und der durch Erythrozytenaustritte entstandenen Blutungsherde sehr erschwert bzw. vielfach unmöglich. Die Werte für den pFA der Blutgefäße nehmen aus diesen Gründen statistisch nicht eindeutig zu, wie es subjektiv nach dem mikroskopischen Aspekt zunächst erscheint. Demgegenüber steigt der pFA der Blutungen steil an. Ebenso ist die Zunahme des pFA der Oedeme signifikant, jedoch prozentual nur gering.

Die Vermehrung von Fettzellen, die ITO (1965) bereits für das WM beschrieb, bewirkt eine Benzolspeicherung im Knochenmark - wie oben ausgeführt - und damit eine Steigerung des Depoteffekts. Dadurch kommt es zu einer Verstärkung und Verlängerung der toxischen Einflüsse des Benzols sowohl auf das myeloische Parenchym als auch auf die Endothelzellen. Zeichen dafür könnten die stärkere Zunahme des pFA der nichtparenchymatösen Strukturen und die stärkere Abnahme des myeloischen Parenchyms gegen Ende unseres Versuches sein. Insgesamt ist die Zunahme der nichtparenchymatösen Strukturen im Wesentlichen als passive Ausfüllung der durch Parenchymrückgang freiwerdenden Räume aufzufassen, wobei die Fettzellvermehrung nicht als mechanisch bedingtes Phänomen verstanden werden kann, sondern wohl auf dem Wege einer intoxicationsbedingten Zellstoffwechselstörung zustande kommt.

Den von ITO (1965) in einer Untersuchung am WM beschrie-

benen starken Parenchymrückgang und eine erhebliche Fettzellzunahme finden wir am WM in gleicher Weise, das FM zeigt jedoch geringere Schädigungsfolgen: Hier ist die Parenchymverminderung weniger stark und erfolgt langsamer, der Fettzellzuwachs ist geringer.

Die stärkere Schädigung des Parenchyms im WM macht sich bei fast allen ausgezählten Zellgruppen oder Strukturen bemerkbar. Eine stichhaltige Erklärung hierfür ist zur Zeit nicht möglich. Es können nur hypothetische Mechanismen als Denkmöglichkeiten vorgeschlagen werden. Eine mögliche Ursache sehen wir in dem signifikant geringeren pFA der Gefäße im WM, da der geringere Gefäßquerschnitt eine volumenmäßig geringere Zirkulation und damit eine langsamere Auschwemmung des Giftes bedingen könnte.

Hierzu kommt eine zusätzliche Benzolspeicherung in den im WM signifikant stärker zunehmenden Fettzellen. Damit wird das WM wiederum stärker von der Benzolintoxikation betroffen. Auffällig sind außerdem erhebliche Unterschiede der Zellzahlen bei den Mastzellen und den Plasmazellen, die im WM von vornherein in geringerer Menge vorkommen, während die Megakaryozyten im WM häufiger sind.

Aus diesen Unterschieden ergibt sich, daß bei klinischen Untersuchungen des Knochenmarks je nach Fragestellung die Besonderheiten der einzelnen Markgebiete berücksichtigt werden müssen.

Zusammenfassung

In einem Modellversuch an Ratten wurden mit Hilfe moderner Einbettungs- und Präparationstechniken (Methacrylateinbettung) histologische und histometrische Untersuchungen des Knochenmarks (Femurmark und Wirbelmark) bei verschieden langer Benzolintoxikation durchgeführt.

Dabei kam es mit zunehmender Vergiftungsdauer zu einem erheblichen Rückgang des myeloischen Parenchyms und einer Zunahme der nichtparenchymatösen Strukturen:

Die Mitosenzahl nahm stark ab, ebenso die Gesamtzellzahl. Der prozentuale Flächenanteil der Erythropoese ging stärker zurück als der der nichterythropoetischen Parenchymanteile. Die Eosinophilen zeigten eine besonders starke Abnahme bis zum vollständigen Verschwinden nach 3-wöchiger Benzolbehandlung. In gleicher Weise nahmen auch die Mastzellen sehr stark ab. Bei den Megakaryozyten standen regressive Kernveränderungen im Vordergrund während ihre Menge sich kaum verminderte. Ebenso nahm die Zahl der Plasmazellen nur gering ab.

Die Zunahme der nichtparenchymatösen Strukturen beruhte auf einer erheblichen Zunahme des Fettzellanteils, auf Sinuserweiterung mit Hyperämie bis hin zu ausgedehnten Blutungen bei den besonders lange mit Benzol behandelten Tieren, in geringerem Ausmaß auch auf Oedemen. Zwischen Femurmark und Wirbelmark zeigten sich sowohl bei unbehandelten Kontrolltieren als auch bei dem myelotoxischen Benzoleffekt deutliche Unterschiede in der quantitativen Ausprägung der einzelnen Gewebskomponenten. Das Wirbelmark wird z.B. erheblich stärker geschädigt. Die verschiedenen in der Literatur mitgeteilten Mechanismen der Benzolwirkung werden anhand der nachgewiesenen histologischen und histometrischen Veränderungen diskutiert.

Anmerkung: Herrn Priv. Doz. Dr. med. K. Noeske danke ich für Anleitung und Hilfe bei der Durchführung dieser Arbeit. Herrn Professor Dr. Dudeck danke ich für die Hilfe bei der statistischen Bearbeitung. Herrn Dechert danke ich für die Hilfe bei den Tierversuchen.

Literatur

BLASCHKE, R. Indirekte Volumen-, Oberflächen-, Größen- und Formfaktorenbestimmungen mittels Zählfiguren in Schnittebenen mit dem LEITZ-Zähllokular.

BOELLAARD, J.W. und Th.v.HIRSCH Die Herstellung histologischer Schnitte von nicht entkalkten Knochen mittels Einbettung in Methacrylsäure-ester. Mikroskopie 13, 386 - 391 (1959).

BOJE, H., W.BENKEL und H.J.HEINIGER Untersuchungen zur Leukopoese im Knochenmark der Ratte nach chronischer Benzolinhalaation. Blut 21, 250-257 (1970).

BURKHARDT, R. Präparative Voraussetzungen zur klinischen Histologie des menschlichen Knochenmarks.

1. Teil Blut 8, 337-357 (1966)

2. Teil Blut 9, 30-46 (1966).

BROWNING, E. Toxicity and Metabolism of Industrial Solvents. Elsevier Publishing Company, Amsterdam-London-New York 1965.

FLIEDNER, Th.M., St. SANDKÜHLER und R.STODTMEISTER Über die Voraussetzungen der Markregeneration nach Schädigung durch radioaktives Goldkolloid. Schw.Med.Wschr. 39/40, 1225-26 (1957).

DE GOWIN, R.L. Benzene exposure and aplastic anemia followed by leukemia 5 years later. J. Amer.med.Ass. 185, 748-751 (1963).

GALLINELLI, R. Tre casi di 'benzolismo cronico di cui due mortali. Med.Lav. 54, 169-182 (1963).

GANZONI, U. Kinetik und Regulation der Erythrozytenproduktion. Springer, Heidelberg-Berlin-New York 1970.

ITO, U. Elektronenmikroskopical study on benzene intoxicated rat bone marrow with special references to its reticulo-endothelial structure. Bull.Tokyo Med.Dent. Univ. 12, 1-29 (1965).

JONEK, J., M.KAMINSKI, A.KARBOWSKI und H. GRZYBEK Einfluß subakuter Benzolvergiftungen auf das Verhalten einiger Enzyme in den Nieren von Mäusen. Int. Arch. Gewerbepath., Gewerbehyg. 24, 140-147 (1967).

JONEK, J., H.GRZYBEK, M.KAMINSKI und D.KOCHANSKA Histochemische Lokalisation verschiedener Enzyme in der Mauseleber bei akuter Benzolvergiftung. Int.Arch.Gewerbepath.Gewerbehyg. 22, 133-140 (1966).

KÄHLER, H.J. und H.MERKER Chronisch-myeloische Leukämie bei langjährigem Kontakt mit Benzol. DMW 86, 1135-1140 (1961)

LIGNAC, G.O.E. Verschiedene Leukämieformen durch Benzol bei weißen Mäusen. Klin. Wschr. 12, 109-110 (1933).

LOB, M. L'intoxication chronique par la benzene (clinique, pronostic, traitement). Rev.med.Suisse rom. 81, 833-839 (1961).

LUDWIG, H. und A.WERTHEMANN Benzolmyelopathien. Schw. Med.Wschr. 92, 378-384 (1962).

MATSUSHITA, T. Experimental studies on the disturbance of hematopoietic organs due to benzene intoxication. Nagoya J.med.Sci. 28, 204-234 (1966).

MC LEAN, J.A. Blood dyscrasia after contact with petrol containing benzol. Med.J.Aust. 47, II, 845-849 (1960).

MERKER, H. Benzol und die Früherkennung seiner blutschädigenden Wirkung. Med.Klin. 57, 1254-1262 (1962).

MIESCHER, P., A.WERTHEMANN, H.LÜDIN Erythromyeloeseähnliche Hämopathie als Folge einer Benzolintoxikation. Acta haemat.(Basel) 25, 308-20 (1961).

MOESCHLIN, S. Klinik und Therapie der Vergiftungen. Thieme, Stuttgart 1956.

MOESCHLIN, S. Experimental studies on the mechanism of action of benzene on the bone marrow (autoradiographic studies with H³-thymidine). Acta haemat. (Basel) 38, 104-111 (1967).

PHILIP, P. und M.K.JENSEN Acta pathologica mikrobiologica scandinavica Section A 78, 489-490 (1970).

POLLINI, G., E.STROSSELLI, R.COLOMBI, R.CORSICO Evoluzione leucosica dell'emopatia benzolica. Haematologica (Pavia) 49, 1175-1194 (1964).

RONDANELLI, E.G., P.GORINI, D.PECORARI, N.TROTTA und R.COLOMBI Effets du benzene sur la mitose erythroblastique. Investigations a la microcinematographique en contraste de phase. Acta haemat. (Basel) 26, 281-302 (1961).

SAITA und VIGLIANI Sull'azione leucemogena del benzolo. Med.Lav. 53, 581-586 (1962).

SCHRENK, H.H., W.P.Yant, S.J.Pearce, F.A.PATTY und R.R.SAYERS Absorption, Distribution and Elimination of Benzene by Body Tissues and Fluids of Dogs exposed to Benzene Vapour. J.Ind.Hy.Toxicol. 23, 20 (1941).

SELLING, L. Benzol as a Leukotoxin. The John Hopkins Hospital Reports 17, 83-142 (1916).

SPECK, B., Th. SCHNIDER, U. GERBER und S. MOESCHLIN
Experimental studies on the action mechanism of benzene
on bone marrow. Radioautographic studies with H³-thymi-
dine. Schw. Med. Wschr. 96, 1274-1276 (1966).

SPECK, B. und MOESCHLIN, S. Die Wirkung von Toluol, Xylol
Chloramphenicol und Thiouracil auf das Knochenmark.
Schw. Med. Wschr. 98, 1684-1686 (1968).

STODTMEISTER, R., St. SANDKÜHLER und Th. M. FLIEDNER Über
die Beziehungen des Ausschwemmungsmechanismus zur Sinus-
funktion im Knochenmark. Schw. Med. Wschr. 39/40, 1225
(1957).

TARCEFF, E. M., N. M. KONCHALOVSKAYA und L. A. ZORINA
Benzene leukemias. Acta. un. int. Cancr. (Louvain)
19, 751-755 (1963).

VIGLIANI Benzene and Leukemia. New Engl. J. Med.
271, 872-876 (1964).

WEISKOTTEN, H. G., S. C. SCHWARTZ und H. S. STEENSLAND
The action of Benzol. J. Med. Res. 33, 127-140 (1915-16).

WIRTSCHAFTER, Z. T. und M. G. BISCHEL Reticuloendothelial
Response to Benzene. Arch. Environ. Health 1, 10 (1960).

ZEYER, H. G. und E. W. BAADER Handbuch der gesamten Ar-
beitsmedizin Band II. Vergiftung durch Benzol und seine
Homologen. Urban und Schwarzenberg 1961.

Helmuth Martens
Pathologisches Institut
63 Gießen, Klinikstraße

Lebenslauf

Am 11. August 1943 wurde ich als Sohn des Kaufmanns Rolf Martens und seiner Ehefrau Barbara geb. Grüneisen in Nedlitz Kreis Jerichow geboren. Mein Vater fiel im April 1945. Die Volksschule besuchte ich in Biederitz bei Magdeburg. Im Januar 1955 kam ich für ein halbes Jahr zu Verwandten nach Bischofszell im Kanton Thurgau, Schweiz, während meine Mutter nach der Übersiedlung in die Bundesrepublik eine neue Existenzgrundlage zu schaffen suchte. Im August 1955 zogen wir nach Stuttgart. Dort besuchte ich bis zum Abitur im März 1963 das humanistische Karlsgymnasium.

Im Sommersemester 1963 begann ich das Studium der Medizin in Gießen, wo ich mit Ausnahme des Sommersemesters 1966, das ich in Wien verbrachte, mein Studium bis zum Staatsexamen im Januar 1969 absolvierte.

Nach der Medizinalassistentenzeit in der Medizinischen Klinik in Gießen und in der Chirurgischen und der Gynäkologischen Abteilung des Johanniterkrankenhauses in Dierdorf im Westerwald erlangte ich am 1. Mai 1970 die Approbation. Vom 15. Mai 1970 bis zum 30. April 1971 war ich Wissenschaftlicher Assistent des Pathologischen Instituts in Gießen, wo die vorliegende Arbeit entstand.

Gießen, Mai 1971

Helmuth Martens

